

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman secang dilaksanakan di Laboratorium Pembelajaran Biologi Fakultas Teknologi dan Sains Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tanggal 19 April 2024 dengan nomor keterangan hasil determinasi 223/Lab.Bio/B/V/2024 yang menyatakan bahwa tanaman yang digunakan adalah tanaman secang dengan nama latin *Caesalpinia sappan* L. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 2.

2. Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun secang diawali dengan memilih bagian daun yang tidak rusak dan masih segar. Daun secang yang sudah dikumpulkan sebanyak 2 kg dicuci bersih dan dilakukan sortasi basah, kemudian dikeringkan di oven selama 1 x 24 jam pada suhu 40°C. Dilakukan penyerbukan daun secang kering menggunakan grinder dan dilakukan pengayakan menggunakan ayakan mesh 40. Didapatkan hasil serbuk daun secang sebanyak 1.445 gram.

3. Pembuatan Infusa

Pembuatan infusa dilakukan menggunakan 100 gram serbuk daun secang ditambah 100 mL akuades didapatkan hasil sebanyak ± 60 mL, proses ini didapatkan sediaan infusa 100% b/v sebagai konsentrasi induk yang kemudian diencerkan menjadi 4 konsentrasi perlakuan uji yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%, dimana setiap konsentrasi dibuat sebanyak 3 kali replikasi. Rincian perhitungan pembuatan konsentrasi larutan uji dapat dilihat pada Lampiran 6 dan Volume hasil infusa dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Volume Hasil Infusa Daun Secang

Replikasi	Volume (mL)
1	60
2	62
3	63

4. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan melalui pengamatan dengan indera manusia yaitu hidung, mata, tangan, dan lidah. Hasil uji dapat dilihat Tabel 4.

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptik

Uji Organoleptik	Hasil
Warna	Coklat kehitaman
Bau	Aromatik khas secang
Bentuk	Cair
Rasa	Pahit

5. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia menggunakan uji tabung bertujuan mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari infusa daun secang (*Caesalpinia sappan* L.). Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Konsentrasi Infusa			
	20%	40%	60%	80%
Alkaloid	Draendroff	-	-	-
	Mayar	-	-	-
	Wagner	-	-	-
Flavanoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+	+

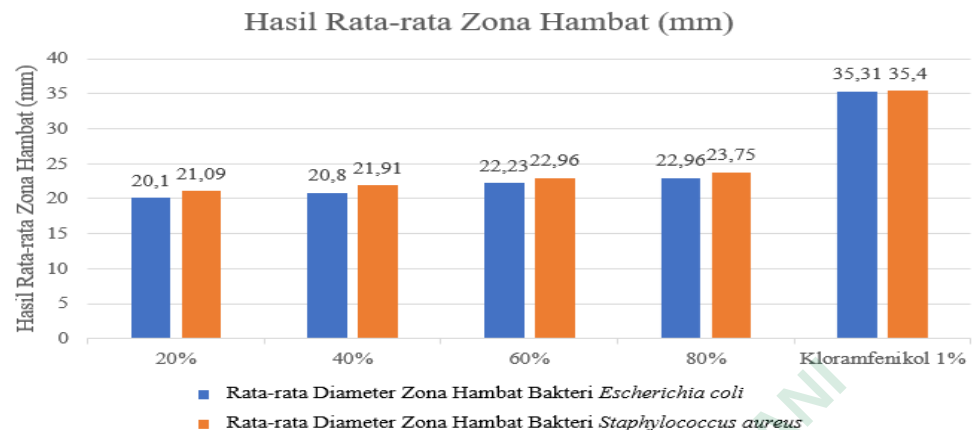
Keterangan :

+ : Mengandung senyawa

- : Tidak mengandung senyawa

6. Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur zona bening disekitar sumuran secara horizontal, diagonal dan vertikal diukur menggunakan jangka sorong. Hasil rata-rata diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 1. Hasil Rata-rata Diameter Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

7. Analisis Data

Data diameter zona hambat bakteri dianalisis menggunakan SPSS versi 25 yang bertujuan membandingkan rata-rata zona hambat pada tiap konsentrasi uji. Hasil analisis statistika dilihat pada Tabel 6 dan Tabel 7.

Tabel 4. Hasil Analisis Statistika Rata-rata Diameter Zona Hambat Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan Uji Lanjutan *Post Hoc*

Konsentrasi	Uji <i>Shapiro-Wilk</i> (Normalitas)	Uji <i>Levene</i> (Homogenitas)	One Way ANOVA
20%	0,298	0,120	0,001
40%	0,090		
60%	0,596		
80%	0,266		

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Sig
20%	40%	0,527
	60%	0,007
	80%	0,001
40%	20%	0,527
	60%	0,043
	80%	0,002
60%	20%	0,007
	40%	0,043
	80%	0,118
80%	20%	0,001
	40%	0,002
	60%	0,118

Tabel 5. Hasil Analisis Statistika Rata-rata Diameter Zona Hambat Terhadap Bakteri Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Uji <i>Shapiro-Wilk</i> (Normalitas)	Uji <i>Levene</i> (Homogenitas)	One Way ANOVA
20%	0,910	0,707	0,118
40%	0,425		
60%	0,061		
80%	0,109		

B. Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui daya hambat dari infusa daun secang terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode sumuran. Penelitian ini diawali dengan determinasi tanaman yang bertujuan untuk memastikan spesies tanaman yang digunakan benar dan menghindari kesalahan dalam pengambilan sampel uji. Hasil determinasi membuktikan bahwa tanaman yang diujikan benar tanaman daun secang dengan nama latin *Caesalpinia sappan* L.

Proses pengambilan senyawa metabolit sekunder dari daun secang dilakukan dengan menggunakan metode infusa. Metode infusa digunakan karena relatif mudah, murah, dan cepat. Infusa merupakan ekstraksi panas dengan menggunakan pelarut akuades. Pelarut akuades bersifat polar, polaritas ini memungkinkan akuades untuk membentuk ikatan hidrogen dengan molekul polar lainnya seperti senyawa aktif saponin, tanin dan flavonoid sehingga senyawa tersebut dapat larut dalam pelarut akuades (Mulyana dkk., 2013). Proses penyaringan pada infusa daun secang dilakukan saat sediaan dalam kondisi dingin, hal tersebut dilakukan dengan tujuan agar minyak atsiri yang terkandung dalam infusa tidak menguap bersama dengan uap air (Santosa dkk., 2023).

Dalam penelitian ini dilakukan uji organoleptik pada infusa daun secang. Uji organoleptik bertujuan mendeskripsikan warna, bentuk, rasa dan bau. Hasil uji yang didapatkan sejalan dengan penelitian Adinda (2020) yaitu infusa secang berwarna merah, bau yang aromatik khas secang, berbentuk cair dan rasa yang

pahit. Hasil uji organoleptik infusa daun secang menunjukkan hasil infusa berbau aromatik khas secang, berwarna coklat kehitaman, berbentuk cair dan rasa pahit. Warna coklat kehitaman yang dihasilkan disebabkan oleh kandungan senyawa brazilin yang terkandung pada daun secang, sementara itu bau khas aromatik yang dihasilkan dikarenakan kandungan minyak atsiri yang terkandung pada daun secang (Latirah, 2021).

Pengujian selanjutnya yang dilakukan yaitu uji skrining fitokimia pada infusa daun secang. Uji skrining fitokimia dengan tujuan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder pada infusa daun secang. Uji skrining fitokimia diawali dengan melakukan penentuan kandungan senyawa alkaloid menggunakan 3 pereaksi yaitu Wagner, Dragendorff dan Mayer. Hasil pengujian senyawa alkaloid terhadap infusa daun secang menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuknya endapan pada hasil uji. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Agusti dkk., (2022) dan Aba dkk., (2021) bahwa ekstrak daun secang tidak mengandung alkaloid.

Identifikasi senyawa flavonoid pada infusa daun secang menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid. Hal tersebut diidentifikasi dengan terbentuknya perubahan warna larutan menjadi kuning setelah penambahan pereaksi Magnesium dan HCl pekat. Perubahan warna pada senyawa flavonoid ini diakibatkan oleh penambahan HCl pekat yang membentuk garam flavilium. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Noer dkk., (2018) dan Aba dkk., (2021) yang menunjukkan bahwa daun secang mengandung flavonoid.

Identifikasi senyawa tanin pada infusa daun secang menggunakan pereaksi FeCl_3 menunjukkan hasil positif mengandung tanin. Hal tersebut dikarenakan adanya reaksi yang disebabkan oleh senyawa tanin yang membentuk kompleks dengan pereaksi FeCl_3 . Hasil tersebut didukung oleh penelitian Endarini., (2016) dan Agusti dkk., (2022) yang menunjukkan bahwa infusa daun secang mengandung tanin.

Identifikasi senyawa saponin dilihat dengan terbentuknya busa saat infusa digojog dengan akuades. Hal ini disebabkan sifat fisik saponin mudah larut dalam akuades sehingga menghasilkan busa saat digojog. Hasil pengujian saponin pada

infusa daun secang menunjukkan hasil positif mengandung saponin. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Agustina dkk., (2017) dan Ayu (2019) bahwa ekstrak kayu secang positif mengandung saponin.

Penentuan senyawa fenolik pada infusa daun secang menggunakan pereaksi FeCl_3 menunjukkan hasil positif mengandung fenolik. Reaksi FeCl_3 dengan sampel menyebabkan terbentuknya warna pada hasil pengujian ini. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Marlina dkk., (2005) dan Agustina dkk., (2017), senyawa fenolik menunjukan hasil yang positif karena terdapat warna kehitaman pada larutan infusa daun secang setelah penambahan FeCl_3 .

Hasil uji senyawa steroid/triterpenoid pada infusa daun secang ditambahkan $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{H}_2\text{SO}_4$, menunjukan hasil positif mengandung triterpenoid sedangkan menunjukan hasil negatif pada steroid. Hal ini ditunjukan dengan adanya perubahan menjadi warna merah menandakan positif senyawa triterpenoid. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Widowati (2011) dan Ayu (2019) bahwa hasil positif untuk triterpenoid dinyatakan ketika sampel menunjukan pembentukan warna merah, dan negatif steroid karena tidak membentuk warna biruh/hijau.

Pengujian selanjutnya setelah dilakukan uji organoleptik dan uji fitokimia yaitu uji aktivitas antibakteri infusa daun secang terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sampel dibagi menjadi 4 konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60% dan 80%. Kontrol positif dalam uji ini digunakan kloramfenikol 1%. Alasan menggunakan kloramfenikol 1% sebagai kontrol positif karena kloramfenikol merupakan agen antimikroba berspektrum luas yang memiliki efek bakteristatik terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Hasil uji mengidentifikasi bahwa infusa daun secang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi sampel sangat berpengaruh dalam aktivitas antibakteri. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, semakin luas zona hambat yang terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar zona hambat, semakin efektif kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Dengan kata lain, zat antimikroba alami pada konsentrasi yang lebih tinggi memiliki kemampuan yang kuat untuk menghambat bakteri. Hal

ini sejalan dengan penelitian Novaryantiin dkk., (2018) yang menunjukkan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan semakin luas zona hambat yang terbentuk karena lebih banyak zat aktif yang ikut tersari. Aktivitas antibakteri infusa daun secang pada bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan aktivitas pada bakteri *Staphylococcus aureus*, meskipun kategori zona hambat yang ditunjukkan terhadap kedua bakteri tersebut termasuk dalam kategori sangat kuat.

Berdasarkan analisis statistika menggunakan uji *Shapiro-Wilk* zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menunjukan data terdistribusi normal. Uji homogenitas pada data zona hambat infusa daun secang pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* didapatkan nilai signifikansi lebih dari 0,05 yang menunjukkan data yang di dapatkan homogen. Dilanjutkan dengan uji *One-way ANOVA* menunjukkan nilai signifikansi pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar $p = 0,118$ ($p < 0,05$), hal tersebut menunjukkan tidak terdapat perbedaan rata-rata diameter zona hambat yang signifikan pada kelompok perlakuan infusa daun secang. Sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* sebesar $p = 0,001$ ($p < 0,05$), hal ini menunjukan adanya perbedaan signifikan dalam rata-rata diameter zona hambat antar kelompok perlakuan. Uji lanjutan analisis statistika rata-rata diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* menunjukan bahwa pada konsentrasi 20% dan 40% tidak terdapat perbedaan signifikan hal serupa juga terjadi pada konsentrasi 60% dan 80%. Namun infusa konsentrasi 20% dan 40% menunjukan nilai yang signifikan terhadap infusa konsentrasi 60% dan 80%.

Hasil uji analisis statistika pada perbandingan rata-rata diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menunjukan bahwa aktivitas antibakteri infusa daun secang pada konsentrasi 20% dan 40% terhadap kedua bakteri tersebut menunjukan nilai yang signifikan, namun pada konsentrasi 60% dan 80% hasil yang didapatkan menunjukan tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan aktivitas antibakteri infusa daun secang terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 60% dan 80%.

Kemampuan infusa daun secang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* berikatan erat dengan kandungan senyawa aktif yang terdapat di dalamnya seperti tanin, lavonoid, terpenoid, dan saponin. yang juga berperan sebagai antibakteri. Saponin dapat mempengaruhi kestabilan membran sel bakteri yang pada akhirnya mengakibatkan aksi bakterisidal dalam sel (Armedita dkk., 2018). Kemampuan flavonoid dapat merusak membran sitoplasma sel bakteri, kerusakan pada membran sitoplasma merupakan bahaya besar bagi kelangsungan hidup bakteri, karena membran tersebut memiliki peran krusial dalam mempertahankan keseimbangan internal, mengatur transportasi zat, dan melindungi komponen sel dari lingkungan eksternal. Oleh karena itu, flavonoid dan senyawa lainnya yang dapat merusak membran sitoplasma berpotensi menjadi agen antibakteri yang efektif menyebabkan kematian sel (Mayasari & Sapitri., 2019). Tanin mampu menonaktifkan sel mikroba dipermukaan sel melalui enzim dimana terdapat pada membran sel serta polipeptida dinding sel, efek ini dapat menyebabkan disfungsi sel dan kematian (Rahman dkk., 2017). Terpenoid mempunyai kemampuan berinteraksi dengan protein saluran di membran luar dinding sel bakteri dan dapat membentuk ikatan polimer yang kuat. Hal ini menyebabkan kekurangannya permeabilitas dinding sel mikroba. Pengurangan permeabilitas ini mengganggu transportasi molekul yang penting untuk kelangsungan hidup sel bakteri, sehingga berkontribusi pada efek antimikroba (Sazali dkk., 2024)

Aktivitas antibakteri paling baik ditunjukkan pada penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli*, berdasarkan hasil analisis data SPSS yang dapat dilihat pada lampiran 15. Hal ini terjadi karena kedua bakteri berasal dari kelompok yang berbeda yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai Gram positif yang mempunyai struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan bakteri *Escherichia coli* sebagai Gram negatif. Bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai 50% dari dinding sel terdiri dari lapisan peptidoglikan, membuatnya sangat sensitif terhadap senyawa antibakteri (Hamidah dkk., 2019). Sementara itu, dinding sel *Escherichia coli* lebih kompleks dengan lapisan dalam peptidoglikan, lapisan luar lipoprotein dan lapisan tengah

lipopolisakarida. Struktur ini menyebabkan bakteri Gram negatif lebih tahan terhadap beberapa jenis senyawa antibakteri (Sanuddin dkk., 2022).

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA